

工作简报

固相萃取-高效液相色谱法测定化妆品中苯甲酸和山梨酸

张信凤, 王艳艳, 孙永华

(成都理工大学 材料与化学化工学院, 成都 610059)

摘要: 化妆品样品用甲醇提取使苯甲酸及山梨酸溶于溶剂中, 经离心分离, 取上层清液, 通过反相 C₁₈ 固相萃取小柱纯化。取其流出液经过滤和脱气后, 用于高效液相色谱法分析。取 20 μL 进样, 在 Hypersil C₁₈ 反相色谱柱(柱温 30 °C) 上进行分离, 所用流动相为甲醇与 0.02 mol · L⁻¹ 乙酸铵(15+ 85) 混合溶液, 流量为 0.8 mL · min⁻¹。采用紫外检测, 检测波长为 221 nm, 测得苯甲酸和山梨酸的检出限(3S/N) 分别为 0.04, 0.08 mg · L⁻¹。用 5 mg · L⁻¹ 的苯甲酸和山梨酸标准溶液作精密度试验, 测得两者的相对标准偏差($n=7$) 分别为 2.8% 及 2.5%, 向实际样品中加上上述两种酸的标准溶液作回收试验, 测得回收率在 85.0%~ 106.7% 之间。

关键词: 高效液相色谱法; 固相萃取; 苯甲酸; 山梨酸; 化妆品

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-4020(2011)09-1031-03

HPLC Determination of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Cosmetics with Sample Pretreatment by Solid Phase Extraction

ZHANG Xin-feng, WANG Yan-yan, SUN Yong-hua

(College of Materials and Chemistry & Chemical Engineering, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China)

Abstract: The cosmetic sample was treated with methanol to dissolve benzoic acid and sorbic acid. After centrifugation, the supernatant was purified by passing through the RP C₁₈ SPE microcolumn. The eluent from the column, after filtering and de-gassing, was used for HPLC analysis. Twenty μL of the eluent were introduced into the instrument and separated on the Hypersil C₁₈ RP chromatographic column (column temp. 30 °C), using a mixed solution of methanol and 0.02 mol · L⁻¹ NH₄OAc solution (mixed in the ratio of 15+ 85) as mobile phase (with flow rate of 0.8 mL · min⁻¹). UV detection at 221 nm was adopted in the determination. Values of detection limits (3S/N) for benzoic acid and sorbic acid was found to be 0.04 mg · L⁻¹ and 0.08 mg · L⁻¹, respectively. Precision was tested by using 5 mg · L⁻¹ standard solutions of the 2 acids, giving values of RSD ($n=7$) 2.8% (for benzoic acid) and 2.5% (for sorbic acid). Recovery was tested by addition of standard solutions of the 2 acids, giving results of recovery in the range of 85.0% - 106.7%.

Keywords: HPLC; SPE; Benzoic acid; Sorbic acid; Cosmetics

苯甲酸(BA)和山梨酸(SA)是化妆品中常用的防腐剂,其作用是防止化妆品在生产、使用和保存

过程中被微生物污染。山梨酸和苯甲酸在酸性条件下具有较强的抗真菌性质^[1],但是过量加入会造成皮肤损伤,影响甚至危害消费者健康。因此,我国化妆品卫生标准(GB 916- 87)规定山梨酸、苯甲酸使用限量分别为 0.5% 和 0.6%。

目前研究较多的是采用高效液相色谱法测定食

收稿日期: 2010-08-06

基金项目: 成都理工大学引进人才基金(HM0027)

作者简介: 张信凤(1983-),男,福建永泰人,讲师,主要研究方向为光谱及色谱分析。

品中防腐剂苯甲酸和山梨酸^[2-4];对化妆品中苯甲酸、山梨酸的分析,则少有报道。化妆品的主要成分为油脂,用常规方法处理样品后^[2-7],残留的油脂较多,对色谱柱的污染比较严重。固相萃取(SPE)是一种微量样品处理技术^[7],采用高效、高选择性的固定相,具有能减少溶剂的用量,简化样品处理过程和节约样品处理时间,且能有效去除干扰杂质等优点。本工作采用固相萃取-高效液相色谱法测定化妆品中苯甲酸与山梨酸的含量。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

SHIMADZU CLASS-VP 10AT 高效液相色谱仪,反相 C₁₈固相萃取小柱。

混合标准储备溶液:称取 0.100 0 g 苯甲酸和山梨酸粉末,用甲醇溶解并定容至 100 mL,配成 1 000 mg · L⁻¹的混合标准储备溶液。

苯甲酸、山梨酸、乙酸铵为分析纯,甲醇为色谱纯,试验用水为超纯水。

所有溶剂及溶液在测定前均经过 0.45 μm 微孔滤膜过滤及脱气。

1.2 色谱条件

Hypersil C₁₈反相色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 10 μm),柱温 30 °C;流动相:甲醇 0.02 mol · L⁻¹乙酸铵(15+ 85)混合溶液,流量 0.8 mL · min⁻¹;进样量 20 μL,检测波长 221 nm。

1.3 试验方法

称取化妆品试样 0.500 0 g 溶于 20 mL 甲醇中,超声 15 min,在 6 000 r · min⁻¹转速下离心 10 min,取上清液经固相萃取小柱萃取,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后,取清液 20 μL 进样,按色谱条件进行测定,以外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 样品预处理方法的选择

试验采用甲醇溶解样品,超声离心后,取上清液一份通过活化后的固相萃取小柱萃取,一份不经固相萃取小柱处理,分别在色谱条件下进行分析。经对比试验发现:经固相萃取小柱处理后的样品溶液澄清,不经固相萃取小柱处理的样品溶液呈浑浊状。原因是由于样品经过固相萃取小柱后,样品中的油脂等有机残留物被吸附在萃取柱上,苯甲酸与山梨酸在萃取柱上没有保留,直接流出萃取柱,所以样品

处理效果好。试验中萃取柱经活化处理后可重复使用,虽然不能达到在线分析,但节省了样品前处理时间和步骤。

2.2 流动相组成的选择

试验对流动相中甲醇与 0.02 mol · L⁻¹乙酸铵溶液配比进行了考察。结果表明:当甲醇和乙酸铵溶液比例相近时,苯甲酸和山梨酸保留时间相近,两者不能分开;当甲醇用量小时,分析物的保留时间加长,但山梨酸比苯甲酸更长,从而改变两者的分离度,使其得以分开。综合考虑保留时间和分离效果,选择甲醇与 0.02 mol · L⁻¹乙酸铵溶液以体积比 15 比 85 混合为流动相比较合适。

2.3 流动相流量的选择

试验对流动相流量进行考察,结果表明:流动相流量过小时,分析时间较长;流动相流量过大,则分离度减小。综合考虑分析时间和分离效果,试验选择流量为 0.8 mL · min⁻¹。

苯甲酸、山梨酸混合标准溶液的色谱图见图 1。

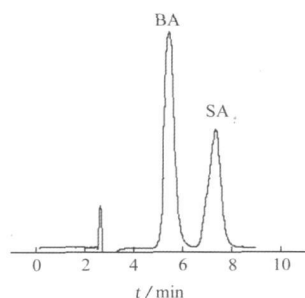


图 1 苯甲酸和山梨酸混合标准溶液色谱图

Fig. 1 Chromatogram of mixed standard solution of benzoic acid and sorbic acid

2.4 标准曲线和检出限

在优化的试验条件下,对苯甲酸和山梨酸混合标准溶液系列进行测定,所得苯甲酸、山梨酸的线性范围、线性回归方程、相关系数及检出限(3S/N)见表 1。对 5 mg · L⁻¹苯甲酸和山梨酸混合标准溶液平行测定 7 次,其相对标准偏差分别为 2.8% 和 2.5%。

表 1 线性范围、线性回归方程、相关系数及检出限

Tab. 1 Linearity ranges, linear regression equations, correlation coefficients and detection limits

组分	线性范围 (ρ (mg · L ⁻¹))	线性回归方程	相关系数	检出限 (ρ (mg · L ⁻¹))
苯甲酸	0.1~ 100	$A = 8.55 \times 10^5 \rho + 2000$	0.997 8	0.04
山梨酸	0.2~ 200	$A = 3.48 \times 10^6 \rho + 320$	0.999 2	0.08

2.5 样品分析

按试验方法对膏状和液体状化妆品样品进行分析, 经萃取后, 虽然膏状样品有其它杂质峰出现, 但没有干扰苯甲酸和山梨酸的测定(图2)。样品测定结果见表2。膏状与液体状化妆品样品中苯甲酸和山梨酸的质量分数均小于0.35%, 符合我国化妆品卫生标准规定。

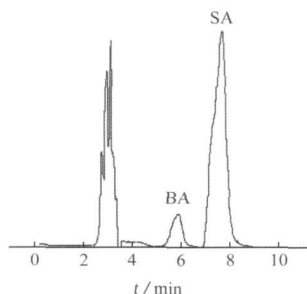


图2 膏状化妆品样品溶液的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of creamy cosmetic sample

同时在膏状、液体状化妆品样品中分别加入苯甲酸和山梨酸标准溶液, 按试验方法进行加标回收试验, 结果见表2。

表2 样品中苯甲酸、山梨酸的测定结果

Tab. 2 Results of det. n. of benzoic acid and sorbic acid in samples

样品	防腐剂	测定值 w / %	加入量 w / %	测得总量 w / %	回收率 / %
膏状	苯甲酸	0.22	0.20	0.39	85.0
	山梨酸	0.31	0.30	0.57	86.7
膏状	苯甲酸	0.15	0.15	0.29	93.3
	山梨酸	-	0.10	0.097	97.0
液体状	苯甲酸	-	0.10	0.093	93.0
	山梨酸	0.30	0.30	0.62	106.7

由表2可知: 两者回收率在85.0%~106.7%之间。

本工作通过用固相萃取法处理样品, 建立了高效液相色谱法测定化妆品中苯甲酸和山梨酸含量的方法。与液-液萃取法相比, 方法具有快速、简便、易于操作等优点, 且能有效地去除化妆品中干扰杂质, 可用于化妆品样品中苯甲酸和山梨酸的测定。

参考文献:

- [1] 祁广建, 沈国英, 刘鹏春. 化妆品中四种常见防腐剂的高效液相色谱测定[J]. 色谱, 1994, 12(6): 445-446.
- [2] 常新. 高效液相色谱测定化妆品中山梨酸和苯甲酸[J]. 中国卫生工程学, 2003, 2(2): 114-121.
- [3] 谢华林. 反相高效液相色谱测定化妆品中防腐剂[J]. 日用化学工业, 2004, 36(6): 137-140.
- [4] GHADER F. Determination of benzoic and sorbic acids in labaneh by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 1999, 12: 53-61.
- [5] 谢丽琪, 郑卫平, 岳振峰, 等. 焙烤食品中糖精钠、富马酸二甲酯、苯甲酸和山梨酸的高效液相色谱法测定[J]. 分析测试学报, 2003, 22(3): 94-96.
- [6] MIKAMI E, GOTO T, OHNO T, et al. Simultaneous analysis of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid and salicylic acid in cosmetic products by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002, 28: 261-267.
- [7] 张林田, 黄少玉, 陈小雪, 等. 高效液相色谱同时测定食品中苯甲酸、山梨酸、水杨酸和糖精钠[J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(12): 1032-1037.

(上接第1030页)

参考文献:

- [1] 黄小红, 卫勇. 石墨炉原子吸收光谱法测定土壤中的镉[J]. 环境科学与管理, 2007, 32(5): 143-144.
- [2] 窦萍珍, 李巧玲. 湖光岩地区植被概况及土地利用研究[J]. 湛江师范学院学报: 自然科学版, 1994, 15(2): 65-70.
- [3] 周丽萍, 李中玺. 王水提取-电感耦合等离子体质谱法测定地球化学样品中微量银、镉、铋[J]. 分析试验室, 2005, 24(9): 20-25.
- [4] 吴成. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定土壤中镉[J].

光谱学与光谱分析, 2003, 23(5): 990-992.

- [5] 吕跃明. 火焰原子吸收光谱法测定土壤中的镉[J]. 理化检验-化学分册, 2004, 40(8): 468-469.
- [6] 曹茂林. 恒温平台石墨炉原子吸收光谱法测定土壤中镉[J]. 理化检验-化学分册, 1999, 35(4): 178-180.
- [7] DOBROWOLSKI R. Determination of Ni and Cr in soils by slurry graphite furnace atomic absorption spectrometry[J]. Spectrochimica Acta Part B, 1996, 51: 221-227.
- [8] 彭瑞兴. 石墨炉原子吸收光谱法测定土壤和底泥中的铅、镉[J]. 光谱实验室, 2003, 20(5): 739-741.